



Отсроченные эффекты хирургического воздействия, перенесенного матерью в период ранней беременности, на артериальное давление и поведение потомков у крыс линии OXYS

И.Н. Рожкова¹, Т.Н. Игонина¹, Д.С. Рагаева¹, О.М. Петрова^{1,2}, Е.Ю. Брусенцев¹, В.А. Напримеров^{1,3}, С.Я. Амстиславский¹✉

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия

Применение некоторых вспомогательных репродуктивных технологий, в частности трансплантации эмбрионов, может вызывать различные физиологические и поведенческие изменения у потомства. Целью нашего исследования являлась проверка влияния хирургического вмешательства, используемого при трансплантации эмбрионов, на вес, артериальное давление и поведение в тестах «открытое поле» (ТОП) и «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) у взрослых потомков. В работе исследованы отсроченные эффекты хирургического воздействия на четвертые сутки беременности на потомков крыс линии OXYS. Самок линии OXYS спаривали с фертильными самцами той же линии, через 96 ч после обнаружения сперматозоидов во влагалищных мазках им проводили хирургическую операцию, имитирующую трансплантацию эмбрионов. У потомков самок, подвергавшихся хирургическому воздействию во время беременности (группа OXYS-PS), в возрасте 3 мес. измеряли вес тела, систолическое (САД) и диастолическое (ДАД) артериальное давление, а также исследовали поведение в тестах ТОП и ПКЛ. Контролем служили потомки интактных крыс OXYS. Средний вес у крыс линии OXYS не отличался от такового у крыс OXYS-PS. Крысы линий OXYS и OXYS-PS имели высокое САД, превышающее гипертензивный порог (150 мм рт.ст.), и высокое ДАД. При этом данные показатели достоверно выше у крыс OXYS-PS, чем у животных контрольной линии. У крыс OXYS-PS в тесте ТОП было снижено время, проведенное в центре арены, меньше исследованная область, а также снижено число стоек и их продолжительность по сравнению с крысами OXYS. Как показано в тесте ПКЛ, число выглядываний из закрытых рукавов и их длительность меньше у крыс OXYS-PS, чем в контроле. Таким образом, хирургическое воздействие, испытанное самкой OXYS на ранних стадиях беременности, приводит к следующим эффектам у потомков: повышение САД и ДАД, снижение исследовательской активности и повышение тревожности.

Ключевые слова: крысы OXYS; беременность; хирургическое воздействие; отсроченные эффекты.

Long-term effects of maternal exposure to surgical stress at the earliest stage of pregnancy on blood pressure and behavior in offspring of OXYS rats

I.N. Rozhkova¹, T.N. Igonina¹, D.S. Ragaeva¹, O.M. Petrova^{1,2}, E.Yu. Brusentsev¹, V.A. Naprimerov^{1,3}, S.Ya. Amstislavsky¹✉

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³ Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia

The use of some assisted reproductive technologies, in particular, embryo transfer, may cause various physiological and behavioral changes in the offspring. The purpose of our study was to study the effects of surgery (which is used for embryo transfer) done with pregnant dams on the weight, blood pressure and behavior in the open field and elevated plus-maze tests in adult offspring. Thus, long-term effects on the offspring after maternal exposure to surgical stress given to dams at the 4th day of pregnancy were studied in OXYS rats. OXYS females were mated in estrus with fertile males of the same strain. 96 hours after spermatozoa were found in vaginal smears the surgery (sham operation, imitating embryo transfer) was performed. Body weight (BW), systolic (SAP) and diastolic (DAP) arterial pressure as well as behavior in open field (OF) and elevated plus maze (EPM) tests were studied in the offspring of females exposed to surgical treatment during pregnancy (OXYS-PS) at the age of 3 mo. Untreated offspring of OXYS rats were used as controls. BW in naturally born OXYS rats did not differ from those of the OXYS-PS group. OXYS and OXYS-PS rats exhibited higher SAP (more than 150 mm Hg) and DAP; it is noteworthy that both SAP and DAP were higher in the OXYS-PS group than in the control group. The time spent in the center of arena, the area studied, the time and number of rearing were decreased in OXYS-PS rats in the OF test as compared to the OXYS controls. Moreover, OXYS-PS rats were characterized by the absence of grooming in the OF test. As was demonstrated by the EPM test, the duration and numbers of peeking out from closed arms were decreased

Received 03.08.2017

Accepted for publication 05.10.2017

© AUTHORS, 2017

in the OXYS-PS rats as compared to the OXYS controls. Thus, OXYS dams' exposure to surgical stress at their early pregnancy led to such effects in the offspring as elevated SAP and DAP, decreased overall activity and increased anxiety.

Key words: OXYS rats; pregnancy; surgical treatment; long-term effects.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Рожкова И.Н., Игонина Т.Н., Рагаева Д.С., Петрова О.М., Брусенцев Е.Ю., Напримеров В.А., Амстиславский С.Я. Отсроченные эффекты хирургического воздействия, перенесенного матерью в период ранней беременности, на артериальное давление и поведение потомков у крыс линии OXYS. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(8):937-942. DOI 10.18699/VJ17.316

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Rozhkova I.N., Igonina T.N., Ragaeva D.S., Petrova O.M., Brusentsev E.Yu., Naprimerov V.A., Amstislavsky S.Ya. Long-term effects of maternal exposure to surgical stress at the earliest stage of pregnancy on blood pressure and behavior in offspring of OXYS rats. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(8):937-942. DOI 10.18699/VJ17.316 (in Russian)

Взаимодействие эмбриона с материнским организмом во время беременности играет важную роль в формировании здоровья будущего ребенка. В соответствии с гипотезой DOHaD (Developmental Origin of Health and Disease) стресс и другие негативные воздействия на мать во время беременности вызывают долгосрочные последствия, такие как задержка роста, гипертония и инсулин-независимый диабет в постнатальный период (Barker, 2000). Исследование воздействия пренатального стресса на поведение будущих потомков, в частности повышение у них уровня тревожности, показано в работах (Wilson et al., 2013; Said et al., 2015; Badache et al., 2017).

Экспериментально подтверждено, что гипотеза DOHaD применима и к преимплантационной стадии пренатального онтогенеза (Kwong et al., 2000; Брусенцев и др., 2014; Игонина и др., 2016). Хирургическое воздействие является одним из видов стресса, который возникает при трансплантации эмбрионов. Он может оказывать влияние на развивающийся организм в пренатальный период и иметь отсроченные последствия, что требует изучения. Ранее было показано, что применение некоторых вспомогательных репродуктивных технологий (БРТ), в частности трансплантации эмбрионов, может привести к изменениям артериального давления у потомства линий крыс с гипертонией (Di Nicolantonio et al., 2006; Lee, Azar, 2010; Рагаева и др., 2014).

Влияние трансплантации эмбрионов на изменение АД у крыс гипертонивных линий подробно описано в обзоре (Рагаева и др., 2014). В работах (Dene, Rapp, 1985; Gray, 1991) исследователи не наблюдали никаких эффектов по влиянию трансплантации эмбрионов крысам реципиентам-нормотоникам на АД крыс гипертонивных линий, однако в более поздних исследованиях обнаружено смягчение и/или задержка развития гипертонии у крыс линий SHR (Di Nicolantonio et al., 2006; Lee, Azar, 2010) и Dahl (Kubisch, Gomez-Sanchez, 1999). В экспериментах на крысах линии НИСАГ данные были противоречивы: при трансплантации эмбрионов крысам-реципиентам нормотонивных линий наблюдалось не смягчение, а, напротив, усиление проявления гипертонии (Amstislavsky et al., 1996; Рагаева и др., 2015), при трансплантации же в матку крыс того же гипертонивного генотипа обнаружено смягчение гипертонии (Amstislavsky et al., 1996). Поскольку трансплантация у крыс производится хирургически, при объяснении результатов следует учитывать

возможные последствия этого стрессирующего воздействия. Необходимо отметить, что влияние хирургического воздействия, испытываемого матерью на самых ранних стадиях беременности, на поведение потомков практически не изучалось.

Линия крыс OXYS, созданная в Институте цитологии и генетики СО РАН, является уникальной генетической моделью преждевременного старения и связанных с ним заболеваний. В настоящее время линия насчитывает уже свыше 100 поколений селекции, хорошо изучена и характеризуется комплексом различных нарушений (Kolosova et al., 2014), в том числе артериальной гипертензией (Shteklina et al., 2005). Влияние трансплантации эмбрионов на АД хорошо известно, но какой именно фактор влияет на изменение показателей АД: материнская внутриутробная среда, культивирование эмбрионов *in vitro* или же сама процедура трансплантации, не установлено.

Цель нашего исследования – выяснение эффектов одного из вышеперечисленных факторов, а именно процедуры трансплантации, т. е. хирургического воздействия, оказываемого на материнский организм на наиболее ранних стадиях беременности; массу тела рожденного потомства, артериальное давление и поведение этих потомков во взрослом состоянии в тестах «открытое поле» (ТОП) и «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) у крыс линии OXYS.

Материалы и методы

Экспериментальные животные. Использовали крыс линии OXYS в возрасте трех месяцев. Животных содержали в SPF-виварии Института цитологии и генетики СО РАН в индивидуально вентилируемых клетках (OptiRAT, Animal Care, США) при температуре 22–24 °C и влажности 40–50 %; в качестве подстилки использовали опилки. Суточный цикл состоял из 12 ч дня и 12 ч ночи, с восходом в 4 ч утра и закатом в 16 ч вечера. Животные имели постоянный доступ к автоклавируемому стандартизированному корму (V1534-300, Sniff, Soest, Германия) и очищенной воде, обогащенной минеральными добавками (Экопроект, Россия). Взрослых самцов крыс в возрасте 12–14 нед содержали в группах по две-три особи.

Все экспериментальные процедуры одобрены Комиссией по биоэтике Института цитологии и генетики СО РАН (протокол № 12 от 6 декабря 2012 г.) и согласуются с Европейской конвенцией о защите позвоночных жи-

вотных, используемых для экспериментальных и других научных целей. Исследования проведены в Центре генетических ресурсов лабораторных животных Института цитологии и генетики СО РАН (RFMEFI61914X0005, RFMEFI62114X0010).

Самцы крыс линии ОХYS были разделены на две группы: ОХYS – интактные животные ($n = 13$), группу формировали из четырех пометов и ОХYS-PS – потомки самок, подвергавшихся хирургическому воздействию во время беременности ($n = 10$), – из пяти пометов. Исследовано поведение крыс в тестах ТОП и ПКЛ, измерены масса тела и артериальное давление.

Хирургическое воздействие. У самок линии ОХYS ($n = 9$) определяли стадию эструса по влажным мазкам. По достижении данной стадии их ссаживали с фертильными самцами этой же линии на ночь. Наличие вагинальных пробок свидетельствовало о фертильном спаривании. Именно таких самок брали в эксперимент. Через 96 ч после спаривания с фертильными самцами самкам линии ОХYS экспериментальной группы (ОХYS-PS, $n = 5$) проводили полостную операцию, аналогичную той, которую проводят при трансплантации эмбрионов. Для анестезии самке-реципиенту вводили медитин (0.02 мл на крысу) внутримышечно, через 10 мин – кетамин (0.2 мл на крысу) внутривенно. Затем подкожно вводили 0.02 мл амоксициллина (тригидрат амоксициллина, 150 мг/мл). Волосы в области операционного поля (правая сторона спины, 1 см от нижнего ребра в вентральном направлении) выбривали, а кожу обрабатывали 70 % спиртом. Кожу и лежащий под ней мышечный слой в области матки разрезали дорсовентрально. Висцеральный жир вместе с яйчником, яйцеводом и верхней частью матки захватывали пинцетом и доставали наружу. В правый рог матки с помощью стеклянного капилляра вводили 5 мкл среды FertiCult Flushing medium (FertiPro, Бельгия). Самки ОХYS интактной группы ($n = 4$) не подвергались хирургической операции во время беременности и служили контролем.

Измерение артериального давления и веса тела. Систолическое (САД) и диастолическое (ДАД) артериальное давление измеряли с помощью двухканальной неинвазивной системы измерения кровяного давления с высокой пропускной способностью (CODA™) (Kent Scientific, Torrington, США). Непосредственно перед измерением артериального давления неанестезированных животных осторожно помещали в рестриктор и взвешивали с помощью весов (ScoutPro SPS2001 F, Ohaus Corporation, США). Для привыкания к экспериментальным условиям крысам было дано минимум 5 мин. Во время измерений крыс выдерживали на нагретой платформе (35 °C). Для каждого животного выполнено не менее шести повторов измерений; при статистическом анализе использовано усредненное значение.

Поведенческие тесты. Поведение взрослых крыс изучали с помощью тестов ТОП и ПКЛ. Процедура габитуации к рукам оператора выполнена за 24 ч до тестирования. Каждое животное помещали в чистую индивидуально вентилируемую клетку и транспортировали в затемненную комнату для наблюдений с красным светом (20 Вт) за 30–60 мин до тестирования. Все тесты проводили в

темный световой период, начиная с 16 ч. После каждого теста животное возвращали в свою клетку. Следующий тест повторяли через 24 ч. Все устройства, используемые для поведенческих тестов, очищали после животного с помощью 0.5 % Combidez. Поведение крыс в каждом тесте регистрировали датчиком изображения Kinect 3-D, расположенным над аппаратом, и оригинальным программным обеспечением EthoStudio software (Kulikov et al., 2008).

Тест ТОП традиционно используется для оценки поведенческих профилей у грызунов (Belzung, Griebel, 2001). Он выполнен в модификации, которая в настоящее время нами используется (Amstislavsky et al., 2001; Kulikov et al., 2008). Устройство для тестирования представляло собой круглую арену с отверстиями в полу ($d = 2$ см), изготовленную из белого поливинилхлорида ($d = 97$ см), разделенную на секторы ($S = 13$ см²) (OpenScience, Россия). Арена была ограничена бортом высотой 42 см и освещена лампой накаливания красного света, расположенной на расстоянии 130 см над поверхностью. Продолжительность теста составляла 5 мин. Фиксировали общепринятые параметры ТОП: время, проведенное в центре арены; пройденное расстояние; исследованная область; число и длительность грумингов; латентный период первого груминга; число и длительность вертикальных стоек; латентный период первой стойки. Все параметры были записаны на видео, а затем проанализированы с помощью программного обеспечения EthoStudio.

Тест ПКЛ используется для оценки тревожности и общей активности, часто в сочетании с ТОП (Carobrez, Bertoglio, 2005). Устройство, используемое в данном исследовании, состояло из двух открытых ($50 \times 14 \times 1$ см) и двух закрытых ($50 \times 14 \times 30$ см) рукавов, изготовленных из поливинилхлорида и приподнятых на 55 см над поверхностью пола. Лабиринт был освещен лампой накаливания (40 Вт), расположенной сверху на высоте 130 см. Продолжительность теста составляла 5 мин. Регистрировали стандартные параметры: время, проведенное в открытых и закрытых рукавах, количество заходов в открытые и закрытые рукава, общее количество переходов (Rodgers, Cole, 1994). Оценивали также некоторые дополнительные поведенческие параметры: пройденное расстояние, частоту, латентность и продолжительность свешиваний вниз головой из открытых рукавов и частоту, латентность и продолжительность выглядываний из закрытых рукавов (Cruz et al., 1994; Carobrez, Bertoglio, 2005). Индекс тревожности рассчитан по (Lee et al., 2016).

Статистический анализ. Различия в весе и уровне артериального давления и поведенческие данные у потомков, рожденных интактными матерями и самками, подвергавшимися хирургическому воздействию, проанализированы с помощью t -критерия Стьюдента при использовании стандартного пакета программного обеспечения STATISTICA V 8.0 (StatSoft, Inc). Данные в табл. 1–3 представлены как среднее \pm SEM, значения при $p < 0.05$ считались статистически значимыми.

Результаты

Получено потомство от девяти самок крыс ОХYS, участвующих в эксперименте, при этом плодовитость самок

Table 1. Arterial blood pressure and body weight in the OXYS and OXYS-PS rat groups

Group	SBP (mmHg)	DBP (mmHg)	Body weight (g)
OXYS (<i>n</i> = 13)	147.3 ± 3.58	103.3 ± 3.30	296.3 ± 4.29
OXYS-PS (<i>n</i> = 10)	164.55 ± 5.27*	119.61 ± 4.07**	295.92 ± 4.37

* *p* < 0.05; ** *p* < 0.01 as compared to OXYS.

Table 2. Behavioral parameters of OXYS rats in the OF test

Parameters	Group (number of rats per group)	
	OXYS (<i>n</i> = 13)	OXYS-PS (<i>n</i> = 10)
Time in the center (% of the test time)	19.5 ± 4.0	4.7 ± 1.21**
Explored area (% of the whole area)	76.3 ± 2.94	59.4 ± 4.95**
Distance travelled (m)	7.1 ± 4.40	7.3 ± 0.48
Grooming bouts (<i>n</i>)	0.7 ± 0.36	0
Grooming duration (s)	0.6 ± 0.34	0
Grooming latency (s)	263.9 ± 18.25	300 ± 0.0
The number of rearings (<i>n</i>)	18.4 ± 1.62	12.1 ± 1.55*
Rearing duration (s)	25.0 ± 3.61	14.5 ± 2.31*
Rearing latency (s)	10.9 ± 5.64	17.3 ± 3.35

* *p* < 0.05; ** *p* < 0.01 as compared to control.

Table 3. Behavioral parameters of OXYS rats in the EPM test

Parameters	Group (number of rats per group)	
	OXYS (<i>n</i> = 13)	OXYS-PS (<i>n</i> = 10)
Time in open arms (% of the test time)	21.79 ± 7.67	17.39 ± 4.95
Time in closed arms (% of the test time)	69.60 ± 7.67	72.70 ± 6.76
Distance travelled (m)	3.50 ± 0.42	3.95 ± 0.44
Head dips (<i>n</i>)	5.50 ± 1.42	5.00 ± 1.44
Head dip duration (s)	7.02 ± 1.86	5.25 ± 1.66
Head dip latency (s)	15.34 ± 7.25	20.13 ± 7.71
Peeking out from closed arms (<i>n</i>)	6.00 ± 1.79	2.40 ± 0.60
Duration of peeking (s)	32.16 ± 10.89	6.09 ± 1.51*
Latency of peeking (s)	49.66 ± 27.11	80.09 ± 23.89
Anxiety index	0.66 ± 0.07	0.70 ± 0.04

* *p* < 0.05 as compared to control.

крыс, перенесших стресс на ранней стадии беременности, не отличалась от таковой у интактных крыс (10.8 ± 0.95 в сравнении с 9.2 ± 0.8 соответственно). Сравнение артериального давления и веса тела крыс линии OXYS и группы OXYS-PS приведено в табл. 1. В возрасте трех месяцев средний вес у взрослых крыс линии OXYS не отличается от среднего веса крыс OXYS-PS. В этом же возрасте крысы линий OXYS и OXYS-PS имеют высокое САД, превышающее гипертензивный порог 150 мм рт. ст. Данный показатель был достоверно выше у крыс OXYS-PS, чем у крыс OXYS (*p* < 0.05). Аналогичные результаты получены по ДАД для крыс линий OXYS и

OXYS-PS. У крыс OXYS-PS этот показатель также достоверно выше, чем у крыс OXYS (*p* < 0.01) (см. табл. 1). Данные по поведению крыс OXYS опытной и контрольной групп в ТОП представлены в табл. 2. Самцы крыс из группы OXYS-PS проводили в центре арены меньше времени, чем самцы линии OXYS (*p* < 0.01). Также исследованная область была меньше (*p* < 0.01) у крыс OXYS-PS по сравнению с контролем. Продолжительность и число стоек было меньше (*p* < 0.05) у крыс OXYS-PS по сравнению с контролем. В табл. 3 приведены показатели по поведению крыс OXYS опытной и контрольной групп в ПКЛ. Длитель-

ность выглядываний из закрытых рукавов была меньше ($p < 0.05$) у крыс OXYS-PS по сравнению с контролем.

Обсуждение

В настоящей работе показано, что вес потомства не зависит от хирургического воздействия на преимплантационной стадии беременности. Имеются данные о снижении веса тела новорожденных детей, полученные в результате применения BPT у человека, даже в тех случаях, когда трансплантировали только один эмбрион (Schieve et al., 2002), хотя в некоторых работах различий по весу тела новорожденных, полученных после применения BPT на человеке (Scherrer et al., 2012) и крысах (Игоница и др., 2016; Di Nicolantonio et al., 2006), не обнаружено. В исследовании, проведенном на мышах (Sjoblom et al., 2005), показано, что изменение веса тела потомства вызвано не самими процедурами BPT, а неоптимальными условиями их культивирования *in vitro*. На гипертензивных крысах линии SHR продемонстрировано (Lee, Azar, 2010), что на вес тела крысят в помете влияет линия вскармливающей их самки, а не применение BPT. В другом эксперименте на этой же линии было показано, что трансплантация эмбрионов на вес потомства не влияет (Di Nicolantonio et al., 2006). Эти данные хорошо согласуются с нашими выводами об отсутствии эффекта по весу тела у крыс линии OXYS, рожденных после хирургического воздействия на преимплантационной стадии беременности. Совокупность всех результатов показывает, что у крыс такая физиологическая характеристика, как вес тела, достаточно стабильна и не зависит от стресса, вызванного хирургическим воздействием на преимплантационной стадии беременности.

В нашем исследовании крысы экспериментальной группы OXYS-PS имели более высокое САД и ДАД, чем крысы контрольной группы, что, по всей видимости, может быть связано с хирургическим воздействием, схожим с тем, что испытывает самка-реципиент при трансплантации эмбрионов. Противоречивый характер имеют данные по изменению АД у потомков, полученных в результате исследований на разных гипертензивных линиях крыс. Так, ранее сообщалось об отсутствии влияния трансплантации эмбрионов на АД у новорожденных в постнатальном онтогенезе (Dene, Rapp, 1985; Gray, 1991). Однако более поздние исследования показали, что, если эмбрионы гипертензивных крыс развиваются в матке нормотензивной самки-реципиента, то у полученного потомства происходит либо смягчение гипертензии, либо задержка ее наступления (Di Nicolantonio et al., 2006; Lee, Azar, 2010). Хотя в ряде исследований не обнаружено изменений АД у потомков нормотензивных крыс, пересаженных на стадии эмбриона гипертензивным самкам-реципиентам (Параева и др., 2014), в некоторых работах, напротив, показано, что АД повышается у потомков крыс без предрасположенности к гипертензии, если они рождаются после трансплантации эмбрионов от самки-реципиента с гипертензией (Lee, Azar, 2010). Это несоответствие в результатах исследований может быть объяснено различиями в выборе линии донора и реципиента, а также используемых методов.

Результаты нашего исследования на крысах OXYS, как и данные более ранних работ (Wilson et al., 2013; Badache

et al., 2017), свидетельствуют о том, что животные, рожденные после стресса матери во время беременности, имеют сниженную исследовательскую активность по сравнению с интактными. Действительно, тест ТОП выявил, что крысы экспериментальной группы достоверно меньше времени проводили в центре платформы. В данном тесте у них были меньше исследованная область и меньшее число вертикальных стоек, а также время, проведенное в стойках.

Кроме того, в нашей работе показано, что крысы, рожденные после хирургического воздействия, отличались повышенной тревожностью по сравнению с контрольной группой, о чем свидетельствует снижение длительности выглядываний из закрытых рукавов в тесте ПКЛ. Данные ранее проведенных исследований находятся в полном соответствии с нашими результатами. Потомки стрессированных во время беременности матерей проявляли повышенную тревожность в ТОП и/или ПКЛ (Said et al., 2015; Badache et al., 2017).

Вероятно, хирургическое воздействие на преимплантационной стадии беременности негативно влияет на развивающийся эмбрион и, согласно гипотезе Д. Баркера (Barker, 2000), может приводить к изменению некоторых физиологических и поведенческих характеристик у потомства в постнатальном онтогенезе. Хирургическое воздействие, произведенное на самых ранних этапах беременности, имеет пролонгированный эффект, так как восстановление после операции занимает не менее недели. Таким образом, последствия этого стресса проявляются не только на преимплантационной стадии, но и на более поздних этапах беременности. Именно с этими воздействиями в раннем пренатальном онтогенезе связаны обнаруженные нами эффекты у потомков – повышение САД и ДАД, снижение исследовательской активности и повышение тревожности.

Acknowledgments

This study was supported by the Russian Foundation for Basic Research, project 15-04-05509, and State Budgeted Project 0324-2016-0002 for the Human and Animal Genetics Department, Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk. Experiments were conducted at the SPF vivarium Shared Access Center, Institute of Cytology and Genetics, projects RFMEFI61914X0005 and RFMEFI62114X0010.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Amstislavsky S.Y., Alekhina T.A., Barykina N.N., Chuguy V.F., Petrenko O.I., Kolpakov V.G. Effects of change of maternal environment during early postnatal development on behaviour in cataleptic rats. *Behav. Proc.* 2001;56(1):41-47. PMID: 11566236.
- Amstislavsky S., Amstislavskaya T., Stein M., Maksimovsky L., Markel A., Ternovskaya Yu., Ternovsky D., Amstislavsky S. Embryo cryobanking for conserving laboratory and wild animal species. *Scand. J. Lab. Anim. Sci.* 1996;23:269-277.
- Badache S., Bouslama S., Brahmia O., Baïri A.M., Tahraoui A.K., Ladjama A. Prenatal noise and restraint stress interact to alter exploratory behavior and balance in juvenile rats, and mixed stress reverses these effects. *Stress.* 2017;20:320-328. DOI 10.1080/10253890.2017.1307962.

- Barker D.J. *In utero* programming of cardiovascular disease. *Theriogenology*. 2000;53:555-574.
- Belzung C., Griebel G. Measuring normal and pathological anxiety-like behaviour in mice: a review. *Behav. Brain Res.* 2001;125(1-2):141-149. PMID: 11682105.
- Brusentsev E.Yu., Igonina T.N., Amstislavsky S.Ya. Traditional and modern approaches to the culture of preimplantation mammalian embryos *in vitro*. *Ontogenez = Ontogenesis* (Moscow). 2014;45(2):73-88. DOI 10.7868/S0475145014020037. (in Russian)
- Carobrez A.P., Bertoglio L.J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. *Neurosci. Biobehav.* 2005;29:1193-1205. DOI 10.1016/j.neubiorev.2005.04.017.
- Cruz A.P., Frei F., Graeff F.G. Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1994;49(1):171-176. PMID: 7816869.
- Dene H., Rapp J.P. Lack of effects of maternal salt intake on blood pressure of offspring in Dahl salt-sensitive rats. *Clin. Exp. Hypertens.* 1985;7:1121-1133.
- Di Nicolantonio R., Koutsis K., Westcott K.T., Wlodek M.E. Relative contribution of the prenatal versus postnatal period on development of hypertension and growth rate of the spontaneously hypertensive rat. *Clin. Exp. Pharm. Phys.* 2006;33:9-16.
- Gray S.D. Reciprocal embryo transfer between SHR and WKY. II. Effect on cardiovascular development. *Clin. Exp. Hypertens. Part A. Theory Pract.* 1991;13:963-969.
- Igonina T.N., Ragaeva D.S., Prokudina O.I., Brusentsev E.Yu., Rozhkova I.N., Abramova T.O., Amstislavsky S.Ya. Effects of *in vitro* culture and embryo transfer on arterial blood pressure, body weight and behaviour in ISIAH rats. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova = I.M. Sechenov Physiological Journal*. 2016;102(9):1089-1098. (in Russian)
- Kolosova N.G., Stefanova N.A., Korbolina E.E., Fursova A.Zh., Kozhevnikova O.S. Senescence-accelerated OXYS rats: A genetic model of premature aging and age-related diseases. *Adv. Gerontol.* 2014;4:294-298.
- Kubisch H.M., Gomez-Sanchez E.P. Embryo transfer in the rat as a tool to determine genetic components of the gestational environment. *Lab. Anim. Sci.* 1999;49(1):90-94. PMID: 10090101.
- Kulikov A.V., Tikhonova M.A., Kulikov V.A. Automated measurement of spatial preference in the open field test with transmitted lighting. *J. Neurosci. Meth.* 2008;170(2):345-351. DOI 10.1016/j.jneumeth.2008.01.024.
- Kwong W.Y., Wild A.E., Roberts P., Willis A.C., Fleming T.P. Maternal undernutrition during the preimplantation period of rat development causes blastocyst abnormalities and programming of postnatal hypertension. *Development*. 2000;127:4195-4202.
- Lee B., Sur B., Cho S.G., Yeom M., Shim I., Lee H., Hahm D.H. Ginsenoside Rb1 rescues anxiety-like responses in a rat model of post-traumatic stress disorder. *J. Nat. Med.* 2016;70(2):133-144. DOI 10.1007/s11418-015-0943-3.
- Lee J.Y., Azar S.H. Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rat blood pressure after embryo transfer into different wombs and cross-suckling. *Exp. Biol. Med.* (Maywood). 2010;235:1375-1384.
- Ragaeva D.S., Abramova T.O., Rozhkova I.N., Brusentsev E.Yu., Kalinichenko E.V., Igonina T.N., Amstislavsky S.Ya. Effects of reproductive technologies and the SPF status on some physiological and behavioral characteristics in rats with arterial hypertension (ISIAH strain). *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2015;19(4):383-387. DOI 10.18699/VJ15.048. (in Russian)
- Ragaeva D.S., Brusentsev E.Yu., Amstislavsky S.Ya. Assisted reproductive technologies and arterial hypertension. *Ontogenez = Ontogenesis* (Moscow). 2014;45(5):299-313 DOI 10.7868/S0475145014050085. (in Russian)
- Rodgers R.J., Cole J.C. Anxiolytic-like effect of (S)-WAY 100135, a 5-HT_{1A} receptor antagonist, in the murine elevated plus-maze test. *Eur. J. Pharmacol.* 1994;261(3):321-325. PMID: 7813555.
- Said N., Lakehayli S., Battas O., Hakkou F., Tazi A. Effects of prenatal stress on anxiety-like behavior and nociceptive response in rats. *J. Integr. Neurosci.* 2015;14:223-234. DOI 10.1142/S0219635215500107.
- Scherrer U., Rimold S.F., Rexhaj E., Stuber T., Duplain H., Garcin S., de Marchi S.F., Nicod P., Germond M., Allemann Y., Sartori C. Systemic and pulmonary vascular dysfunction in children conceived by assisted reproductive technologies. *Circulation*. 2012;125:1890-1896.
- Schieve L.A., Meikle S.F., Ferre C., Peterson H.B., Jeng G., Wilcox L.S. Low and very low birth weight in infants conceived with use of assisted reproductive technology. *N. Engl. J. Med.* 2002;346:731-737.
- Shteklina T.A., Kolosova N.G., Ternier A.Ia. Hypertensive syndrome and changes of water-salt metabolism in the OXYS rats with early ageing. *Russ. Fiziol. Zh.* 2005;91:1213-1220.
- Sjoberg C., Roberts C.T., Wikland M., Robertson S.A. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor alleviates adverse consequences of embryo culture on fetal growth trajectory and placental morphogenesis. *Endocrinology*. 2005;146:2142-2153.
- Wilson C.A., Vazdarjanova A., Terry A.V. Jr. Exposure to variable prenatal stress in rats: effects on anxiety-related behaviors, innate and contextual fear, and fear extinction. *Behav. Brain Res.* 2013;238:279-288. DOI 10.1016/j.bbr.2012.10.003.